

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/EP99/04411

PCT NOTIFICATION OF ELECTION (PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 21 March 2000 (21.03.00)	
International application No. PCT/EP99/04411	Applicant's or agent's file reference P53898PC-HH
International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)	Priority date (day/month/year) 03 July 1998 (03.07.98)
Applicant WITTMANN-LIEBOLD, Brigitte et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
02 February 2000 (02.02.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer A. Karkachi Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

ATENT COOPERATION TR TY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HENGELHAUPT, Jürgen, D.
Gulde Hengelhaupt Ziebig
Schützenstrasse 15-17
D-10117 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 19 December 2000 (19.12.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P53898PC-HH	
International application No. PCT/EP99/04411	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)

1. The following indications appeared on record concerning:		
<input checked="" type="checkbox"/> the applicant	<input type="checkbox"/> the inventor	<input type="checkbox"/> the agent
<input type="checkbox"/> the common representative		
Name and Address WITA GMBH Wittmann Institutes of Technology and Analysis of Biomolecules Warthestrasse 21 D-14513 Teltow Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:		
<input type="checkbox"/> the person	<input checked="" type="checkbox"/> the name	<input type="checkbox"/> the address
<input type="checkbox"/> the nationality		
<input type="checkbox"/> the residence		
Name and Address WITA PROTEOMICS AG Warthestrasse 21 14513 Teltow Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No.	
	Facsimile No.	
	Teleprinter No.	
3. Further observations, if necessary:		
4. A copy of this notification has been sent to:		
<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned	
<input type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:	

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer N. Lindner
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HENGELHAUPT, Jürgen, D.
Schützenstrasse 15-17
D-10117 Berlin
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 21 March 2000 (21.03.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference P53898PC-HH	
International application No. PCT/EP99/04411	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)

1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant
 ☐ the inventor
 ☒ the agent
 ☐ the common representative

Name and Address

HENGELHAUPT, Jürgen, D.
Lützowplatz 11-13
D-10785 Berlin
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

0049/30/2641330

Facsimile No.

0049/30/2641838

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person
 ☐ the name
 ☒ the address
 ☐ the nationality
 ☐ the residence

Name and Address

HENGELHAUPT, Jürgen, D.
Schützenstrasse 15-17
D-10117 Berlin
Germany

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

0049/30/2641330

Facsimile No.

0049/30/2641838

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

The agent's new address on the Demand has been considered as a change under Rule 92bis. In case of disagreement, the International Bureau should be notified immediately.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
 ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority
 ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority
 ☐ other:
The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

A. Karkachi

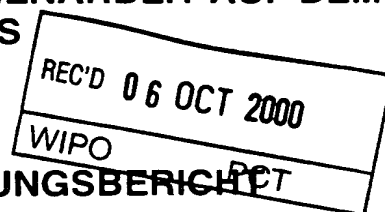
Telephone No.: (41-22) 338.83.38

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)





Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P53898PC-HH	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04411	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 25/06/1999	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 03/07/1998
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N27/447		
Anmelder WITA GMBH ... et. al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 8 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 11 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 02/02/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 04.10.2000
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Komenda, P Tel. Nr. +49 89 2399 2777 

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04411

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-35 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-29 eingegangen am 29/08/2000 mit Schreiben vom 29/08/2000

Zeichnungen, Blätter:

1/10-10/10 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:
- ☐ Zeichnungen, Blatt:

3. ☒ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

siehe Beiblatt

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.
- ☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.
- ☒ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.
- ☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP99/04411

2. ☐ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.
3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3
- ☐ erfüllt ist
- ☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:
siehe Beiblatt
4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:
- ☐ alle Teile.
- ☒ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. 1-22 beziehen.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche 1-22
	Nein: Ansprüche
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche 1-22
	Nein: Ansprüche
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche 1-22
	Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt

Abschnitt I 3.:

1. In die neuen unabhängigen Ansprüche 1, 9, 15, 16 und 19 wurde jeweils das Merkmal einer Hohldichtung aufgenommen. Die Anmeldung in ihrer ursprünglichen Form offenbart jedoch lediglich die Verwendung/das Vorhandensein von Isolierschläuchen ("Rundschläuche oder viereckiges Material z.B. Silikon") bzw. von "dehnbarem Kunststoffschlauch" (Seite 29, Zeile 2). Die Bezeichnung Hohldichtung umfaßt jedoch zahlreiche weitere Möglichkeiten, die durch die angegebenen Offenbarungsstelle nicht gestützt sind. So könnte eine Hohldichtung auch starr und unflexibel ausgestaltet sein und sich in ihrer Funktion dadurch von herkömmlichen streifenförmigen Isolierelementen nicht unterscheiden.
2. Der vorläufige Prüfungsbericht bezieht sich daher auf Ansprüche, in denen das Merkmal "Hohldichtung" im Sinne von "dehnbarer Kunststoffschlauch" interpretiert wurde.

Abschnitt IV:

1. Die vorliegende Anmeldung **in ihrer ursprünglichen Form** enthält mehr als nur eine Erfindung. Die Begründung dafür ist folgende:
 - 1.1 Dokument **D1 = DE-A-37 35 872** stellt den nächstliegenden Stand der Technik bezüglich Anspruch 1 dar. Dieser unterscheidet sich vom zwei-dimensionalen Trennverfahren nach D1 lediglich dadurch, daß die Pufferlösung nach der ersten Trennung abgesaugt wird (vgl. Spalte 3, Zeile 66 bis Spalte 4, Zeile 57), während in D1 die Pufferlösungen (Elektrodenlösungen) durch separate Gefäße (an Rohrelement 17 angeschlossen bzw. in Ausnehmung 13 befindlich) bereitgestellt werden.

Der technische Effekt der Methode nach Anspruch 1 gegenüber der von D1 scheint eine andere Möglichkeit des Pufferaustausches zu sein.

- 1.2 Dokument **D2 = WO 92/00795** stellt den nächstliegenden Stand der Technik bezüglich Anspruch 9 dar und beschreibt eine Elektrophoresevorrichtung die zur zwei-dimensionalen Trennung geeignet ist (abhängig von der Gestaltung des Gels, wie z.B. in US-A-4 874 490 dargestellt), wobei die Elektrophoresekammer einen Kern mit Kühlelementen aufweist (vgl. Figur 3) und wobei "links" und "rechts" davon Gelkammern angeordnet sind (vgl. Figur 4). Der Unterschied zwischen der Vorrichtung nach D2 und der des Anspruchs 1 ist, daß laut letzterem die Gelkammern durch Platten gebildet werden. Dieser Unterschied findet sich ebenfalls im unabhängigen Anspruch 15.

Der damit verbundene technische Effekt scheint eine bessere Temperaturübertragung (d.h. Kühlung) zu sein.

- 1.3 Die Elektrophoresenkammer nach Anspruch 16 unterscheidet sich vom Stand der Technik nach D1 offensichtlich durch die waagerechte Anordnung der Gele und durch die zwei zur Führung von Isolierelementen angeordneten Umlenkelemente.

Der technische Effekt dieses Unterscheidungsmerkmale eine andere Art der Gelanordnung und zusätzlich eine einfachere Handhabung der Isolierung der Trenngele zu sein.

Das Verfahren des unabhängigen Anspruchs 19 unterscheidet sich vom nächstliegenden Stand der Technik nach D1 dadurch, daß das IEF-Gel waagerecht angeordnet ist und als zweites Gel ein SDS, welches waagerecht zum IEF-Gel angeordnet ist, verwendet wird (D1 spezifiziert das zweite Gel nicht).

Der technische Effekt dieser Unterscheidungsmerkmale scheint eine Trennung mittels einer anderen Gelanordnung als der von D1 zu sein.

- 1.4 Abgesehen davon, daß nicht klar ist, was mit dem Ausdruck "anstelle des Gels für die Trennung in der ersten Dimension" gemeint ist ("was nicht vorhanden ist kann auch nicht ersetzt werden"), scheint das Verfahren nach Anspruch 23 ein übliches ein-dimensionales elektrophoretisches Trennverfahren zu beschreiben.

- 1.5 Dokument **D3 = EP-A-0 287 513** stellt den nächstliegenden Stand der Technik bezüglich der unabhängigen Ansprüche 24 und 25 dar. Der Unterschied zwischen dem IEF-Gel nach Anspruch 24 und dem nach D3 besteht darin, daß laut ersterem das Gel einen schichtartigen Aufbau hat.

Der damit verbundene technische Effekt ist offensichtlich ein verbesserter Trenneffekt. Die gleichen Überlegungen gelten für das Trockengel nach Anspruch 29.

2. Aus dem oben Gesagten wird klar, daß der technische Beitrag der genannten unabhängigen Anspruchsgruppen 1, 9+15, 16+19 und 24+29 (Anspruch 23 ist nicht neu) zum jeweiligen Stand der Technik unterschiedlich ist. Dadurch sind diese (Gruppen von) unabhängigen Ansprüche(n) nicht durch eine gemeinsame, erfinderische Idee - wie in Artikel 13.2 PCT gefordert - verbunden, sondern stellen (mindestens) vier unterschiedliche Erfindungen dar.

Abschnitt V:

1. Vorbemerkung:

Nach Aufforderung zur Zahlung von zusätzlichen drei Prüfungsgebühren, wurden vom Anmelder lediglich zwei weitere Prüfungsgebühren unter Protest entrichtet, sodaß im schriftlichen Bescheid die ersten drei Gruppen unabhängiger Ansprüche 1, 9+15 und 16+19 (inklusive der jeweiligen abhängigen Ansprüche) geprüft wurden.

Als Reaktion auf den schriftlichen Bescheid gingen die neuen Ansprüche 1-29 vom 29.08.2000 ein. Der nachfolgende vorläufige Prüfungsbericht hinsichtlich Neuheit, erfinderischer Tätigkeit und gewerblicher Anwendbarkeit bezieht sich aber auf die Ansprüche 1-22 (mit den unter Abschnitt I 3. angegebenen Einschränkungen).

- N:** Das Dokument **D1 = DE-A-37 35 872** wird als nächstliegender Stand der Technik angesehen und beschreibt ein Verfahren zur zweidimensionalen elektro-phoretischen Trennung von Biomolekülen, von welchem sich das Verfahren nach

Anspruch 1 erfindungswesentlich durch die Verwendung eines dehnbaren Kunststoffschlauches als Isolierelement zur Trennung der Gele für die erste und die zweite Dimension unterscheidet (Artikel 33(2) PCT).

Ein ähnliches Unterscheidungsmerkmal findet sich auch in den weiteren unabhängigen Ansprüchen 9, 15, 16 und 19, sowie in den dazugehörigen abhängigen Ansprüchen.

ET: Das Problem bei der Trennung der Gele für die erste und zweite Dimension bei Verwendung von starren Isolierelementen (z.B. Isolierstreifen) besteht darin, daß bei der Entfernung derselben (z.B. durch Herausziehen) das Gel an den Seitenrändern verletzt wird. Werden die Gele hingegen durch Luftpolster voneinander isoliert, besteht die Gefahr der Oxidation oder Austrocknung des Gels. Demzufolge kann das technische Problem darin gesehen werden, ein Verfahren (eine Vorrichtung) zur zweidimensionalen Elektrophorese bereitzustellen, bei dem die Trennungsgel nach der Aufhebung der Isolierung weder verletzt noch ausgetrocknet sind.

Die in der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung besteht darin, einen dehnbaren Kunststoffschlauch als Isolierelement zu verwenden. Beim Herausziehen des Schlauches kann sich aufgrund der Dehnung dessen Außendurchmesser verkleinern, was wiederum eine Beschädigung des Gels verhindert.

Da eine derartige Art von Isolierelementen im vorliegenden Stand der Technik weder beschrieben, noch durch ihn nahegelegt ist, ist die erfinderische Tätigkeit für die Ansprüche 1-22 anzuerkennen (Artikel 33(3) PCT).

GA: Die gewerbliche Anwendbarkeit ist ebenfalls anzuerkennen (Artikel 33(4) PCT).

Abschnitt VIII:

1. Durch die Verwendung von zwei unabhängigen Verfahrensansprüchen 1 und 19 sowie drei unabhängigen Vorrichtungsansprüchen 9, 15 und 16 scheint es schwierig, wenn nicht unmöglich, den Gegenstand des Schutzbegehrens zu

ermitteln, und damit wird Dritten die Feststellung des Schutzzumfangs in unzumutbarer Weise erschwert wird. Den Ansprüchen mangelt es daher insgesamt an Klarheit.

2. Im Vorrichtungsanspruch 15 ist nicht angegeben, durch welche technischen Merkmale die erwähnte automatische 2D-Auftrennung erreicht werden kann. Dem Anspruch fehlen daher wesentliche technische Merkmale.

Europäisches Patentamt
GD1 - Dienststelle Berlin

29. AUG. 2000

Anl.:

Patentansprüche

1. Verfahren zur zwei-dimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Stoffgemischen in Gelen, Polymerträgern durch Elektrophorese in einer Elektrophoreseapparatur, wobei
 - die Gele für die Trennung in der ersten Dimension und die Gele für die Trennung in der zweiten Dimension nacheinander oder gleichzeitig vertikal zueinander angeordnet als Gießgele oder Fertiggele in eine Elektrophorese-Kombikammer eingebracht und voneinander durch eine Hohldichtung isoliert polymerisiert bzw. rehydratisiert werden,
 - nachfolgend Pufferlösungen eingefüllt, ein Biomolekülgemisch auf die Gele der ersten Dimension aufgetragen und die elektrophoretische Auftrennung der ersten Dimension bei konstanter Temperatur oder bei fixiertem Temperaturgradienten durchgeführt,
 - anschließend die Pufferlösung abgesaugt, die Isolierung aufgehoben, in die entstehenden Räume zwischen erster und zweiter Dimension Kontaktgel eingefüllt und auspolymerisiert, Pufferlösungen eingefüllt und die elektrophoretische Trennung der zweiten Dimension bei präzise eingestellter Temperatur und konstanter elektrischer Leistung oder steigender Stromstärke durchgeführt wird und
 - abschließend die Gele entwickelt und die Proteine mit herkömmlichen Methoden sichtbar gemacht werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
zur Trennung die Gele in der Elektrophorese-Kombikammer vertikal stehen und die Trennung der Proteine in der ersten Dimension vertikal und in der zweiten Dimension horizontal erfolgt.
3. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Gele der ersten Dimension als Flachgele in einem U-förmigen Rohr gegossen werden, wobei zuerst ein Stoppgel und nachfolgend das Separationsgel gegossen wird und sowohl Gießvorgänge als auch Polymerisationsvorgänge bei konstanter Temperatur mit aktivierter Kühlung erfolgen.
4. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Gele der zweiten Dimension in zwei Schritten gegossen werden derart, daß in einem ersten Schritt ein Dichtgel und nach dessen Polymerisation in einem zweiten Schritt die Gellösung von unten aufsteigend gegossen wird derart, daß die Luft nach oben verdrängt und das Gel anschließend bei konstanter Temperatur mit aktivierter Kühlung polymerisiert wird.
5. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Gele in variabler Breite und Dicke erzeugt werden.

6. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Aufhebung der Isolierungen durch körperliches Entfernen von Dichtungen oder Schalten mittels Volumen- oder Durchmesser verringern von Dichtungsschläuchen realisiert wird.
7. Verfahren nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Ablauf der zweidimensionalen Elektrophorese automatisiert durchgeführt wird.
8. Verfahren nach Anspruch 3,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Gele und die Pufferlösungen von der gleichen Kühlung temperiert werden.
9. Vorrichtung zur zwei-dimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Substanzgemischen in Gelen durch Elektrophorese in einer Elektroden aufweisenden Elektrophoreseapparatur,
dadurch gekennzeichnet, daß
eine Elektrophorese-Kombikammer (1) einen Kern (2) mit Kühlelementen (3) aufweist, wobei die Kühlelemente (3) zwischen den beidseitig des Kerns (2) durch innere Platten (4) und äußere Platten (5) im Zusammenwirken mit entfernbaren oder schaltbaren Isolierelementen in Form einer Hohldichtung (9) gebildeten Gelkammern (6,7) und Puffergefäßen (8) angeordnet sind.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Kühlelemente (3) durch ein mäanderförmiges
Kühlabyrinth (10) mit Zulauf (11) und Ablauf (12)
gebildet sind und das Kühlabyrinth (10) die
Puffergefäße (8) und (21) umschließt, wobei die
inneren Platten (4) aus einem gut tempera-
turleitenden Material und die äußeren Platten (5)
aus einem transparenten Material bestehen.
11. Vorrichtung nach Anspruch 9,
dadurch gekennzeichnet, daß
die inneren Platten (4) aus Keramik oder Kunststoff
und die äußeren Platten (5) aus Glas oder
transparentem Kunststoff bestehen und die äußeren
Platten (5) durch einen Druckrahmen (13) gehalten
werden und ein Deckel (14) die Elektrophorese-
Kombikammer (1) nach oben abschließt.
12. Vorrichtung nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Druckrahmen (13) über Spannelemente (15)
beidseitig befestigt wird und Sichtfenster (16) zur
Prozeßkontrolle aufweist.
13. Vorrichtung nach Anspruch 9 oder 11,
dadurch gekennzeichnet, daß
die untere Begrenzung der Elektrophorese-
Kombikammer (1) durch einen justier- und drehbaren
Tisch realisiert ist, auf welchem die Elektro-
phorese-Kombikammer (1) fixiert ist und der Deckel

(14) Ein- und Ausleitungen für das Kühlmedium sowie zu den Puffergefäßen (8, 21) und Gelkammern (6,7) und die Anschlüsse für die Elektroden der erste und zweite Dimension aufweist.

14. Vorrichtung nach Anspruch 9,

dadurch gekennzeichnet, daß

der Kern (2) aus Polymermaterial wie Acrylglas, Keramik oder Plexiglas besteht und die Gelkammern (6,7) mit Füllrohren (17) verbunden sind und Entlüftungsöffnungen (18) angeordnet sind und zwischen inneren Platten (4) und äußeren Platten (5) Dichtungen (19) angeordnet sind und die Isolierelemente (9) mit Vertiefungen zusammenwirken und die die Medien Gele und/oder Gellösungen und/oder Pufferlösungen berührenden Teile der Elektrophorese-Kombikammer (1) oberflächenbeschichtet sind, wobei die Oberflächenbeschichtung aus amorphen Kohlenstoffschichten bestehen kann.

15. Vorrichtung zur zwei-dimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Substanzgemischen in Gelen, Polymeren oder trägerfreien Medien durch Elektrophorese in einer Elektrophoreseapparatur,

dadurch gekennzeichnet,

daß alle für die Durchführung einer zwei-dimensionalen Trennung notwendigen Baugruppen in einer Elektrophorese-Kombikammer (1), bestehend aus einem Kern (2) mit Kühlelementen (3), wobei die Kühlelemente (3) zwischen den beidseitig des Kerns durch innere Platten (4) und äußere Platten (5) im Zusammenwirken mit entfernbaren oder schaltbaren Isolierelementen in Form einer Hohldichtung (9)

gebildeten Trennkammern (6, 7), Puffergefäße (8, 21) und Aufnahmen für Elektroden angeordnet sind, vollständig integriert sind und die Durchführung der zwei-dimensionalen Auftrennung vollständig automatisiert werden kann, ohne daß im Ablauf der zwei-dimensionalen Trennung eine Manipulation an den Gelen selber erfolgt.

16. Kombinationskammer zur zweidimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Stoffgemischen in waagerecht übereinander angeordneten Gelen durch Elektrophorese mit einer Rückwandplatte (28A) und einer Deckplatte (28B), wobei zwischen Rückwandplatte (28A) und Deckplatte (28B) mindestens zwei Umlenkelemente (22) zur Führung von Isolierelementen in Form einer Hohldichtung (24) angeordnet sind.

17. Kombinationskammer nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß

die Kammeranordnung aus einem oberen IEF-Teil für die Durchführung der IEF-Elektrophorese in der ersten Dimension und einem unteren Teil für die Durchführung der SDS-Elektrophorese in der zweiten Dimension besteht und die Gele (25) und (36) waagerecht übereinander angeordnet sind und die Platten (28A, 28B) nach außen durch Dichtungen (23) abgedichtet werden und die Gestaltung der Dichtungen (23) die Dicke der Gele (25, 36) festlegt und neben den Umlenkelementen (22) Elektroden (26, 27) für die Elektrophorese der ersten Dimension eingelassen sind, wobei die Platte

(28A) aus Keramik oder Glas besteht und die Platte (28B) eine transparente Platte ist.

18. Kombinationskammer nach Anspruch 16,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Rückwandplatte (28A) mit dem oberen Pufferreservoir (29) der zweiten Dimension sowie dem Gießgefäß (30) und dem Pufferfüllgefäß (31) eine Einheit bildet und die zusammengesetzte Konstruktion aus den Platten (28A, 28B) und dem oberen Pufferreservoir (29), dem Gießgefäß (30) und dem Pufferfüllgefäß (31) in den unteren Puffertank (32) gestellt angeordnet ist und eine Dichtung (33) angeordnet ist, welche anhebbar ausgebildet ist und in dem oberen Pufferreservoir (29) und in dem unteren Puffertank (32) Elektroden (38, 39) für die Elektrophorese der zweiten Dimension angeordnet sind.

19. Verfahren zur zwei-dimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Stoffgemischen in Gelen oder Polymerträgern durch Elektrophorese in einer Elektrophorese-Kombinationskammer, wobei

- ein IEF-Gel in der Kombinationskammer waagerecht angeordnet und zur Rehydratisierung mit Rehydratisierungspuffer überschichtet wird,
- nachfolgend eine Biomolekül- oder Stoffgemischprobe am IEF-Gel eingebracht oder am IEF-Gel angebracht und die Elektrophorese der ersten Dimension durchgeführt wird,
- vor, nach oder während der Durchführung der ersten Dimension ein SDS-Gel für die Durchführung

der zweiten Dimension waagerecht zu dem IEF-Gel und von diesem durch eine Hohldichtung isoliert in die Kombinationskammer eingebracht und das SDS-Gel polymerisiert wird,

- nach Beendigung der IEF-Elektrophorese die Isolierung aufgehoben, in die hierdurch entstehenden Räumen Kontaktgel eingeführt, Pufferlösung zugeführt und die SDS-Elektrophorese in der zweiten Dimension durchgeführt wird und anschließend die Gele nach bekannten Methoden entwickelt und angefärbt werden.

20. Verfahren nach Anspruch 19,

dadurch gekennzeichnet, daß

nach der Rehydratisierung des IEF-Gels überschüssige Pufferlösung entfernt wird und die Aussparung im IEF-Gel durch Einbringen eines Spacer-Einsatzes während der Rehydratisierung erzeugt wird und das IEF-Gel nach der Elektrophorese durch Zusatz von Reequilibrierungspuffer umgepuffert wird und die Isolierung durch Entfernen eines Kunststoffschlauches durch Herausziehen mittels eines Schrittmotors aufgehoben wird.

21. Verfahren nach Anspruch 19,

dadurch gekennzeichnet, daß

die Kühlung beider Elektrophorese-Dimensionen durch Eintauchen der Gelsandwiche in thermostatierte Pufferlösung der zweiten Dimension erfolgt oder die Kühlung beider Elektrophorese-Dimensionen durch in

der Kombinationskammer angeordnete Kühlkammern realisiert wird.

22. Verfahren nach Anspruch 19,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Biomolekül- oder Stoffgemischprobe in eine Aussparung im IEF-Gel eingebracht wird.
23. Verfahren zur ein-dimensionalen Trennung von Biomolekülen oder anderen Stoffgemischen durch Elektrophorese,
dadurch gekennzeichnet, daß
- anstelle des Gels für die Trennung in der ersten Dimension sowie des Isolierelementes ein Kamm mit Probestaschen für verschiedene Proben in das SDS-Gel eingesetzt und dieses auspolymerisiert wird,
 - der Kamm nach dem Auspolymerisieren entfernt ,
 - die Proben in die entstandenen Aussparungen eingebracht und
 - nachfolgend die ein-dimensionale Elektrophorese durchgeführt wird.
24. Hydratisiertes IEF-Gel hergestellt durch Gießen eines Immobilin-Gels mit niedrigem pK auf einer Gelpolymerisationsfolie und dessen Polymerisation, Gießen eines Acrylamidgels auf dem Immobilin-Gel und dessen Anpolymerisation, Gießen eines

Immobilin-Gels mit hohem pK auf dem Acrylamidgel und dessen Anpolymerisation und nachfolgendes Rehydratisieren mittels eines Rehydratisierungspuffers, der 1-4% von solchen Ampholinen enthält, die einen pH-Bereich innerhalb von 2-11, ermöglichen.

25. IEF-Gel nach Anspruch 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
die Immobilin-Gele aus 6-10%, vorzugsweise 10%, Acrylamid unter Zusatz von 50-200 mM, vorzugsweise 50-100 mM, Immobilin hergestellt sind.
26. IEF-Gel nach Anspruch 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
das Acrylamidgel aus 3,5-4,5%, vorzugsweise 3,5-4%, Acrylamid hergestellt ist.
27. IEF-Gel nach Anspruch 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
der Rehydratisierungspuffer von 5-9,5 M, vorzugsweise 9 M, Harnstoff und gegebenenfalls Detergenzien, vorzugsweise Tween 20, Chaps oder Triton X-100 enthält.
28. IEF-Gel nach Anspruch 24,
dadurch gekennzeichnet, daß
vor der Rehydratisierung gegebenenfalls Waschschriffe durchgeführt werden und getrocknet wird.

29. Trockengel hergestellt durch Gießen eines Immobilin-Gels mit niedrigem pK auf einer Gelpolymerisationsfolie und dessen Polymerisation, Gießen eines Acrylamidgels auf dem Immobilin-Gel und dessen Anpolymerisation, Gießen eines Immobilin-Gels mit hohem pK auf dem Acrylamidgel und dessen Anpolymerisation.

10 09/720 943

5660

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

10

Applicant's or agent's file reference P53898PC-HH	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP99/04411	International filing date (day/month/year) 25 June 1999 (25.06.99)	Priority date (day/month/year) 03 July 1998 (03.07.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 27/447		
Applicant WITA PROTEOMICS AG		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 11 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☒ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 02 February 2000 (02.02.00)	Date of completion of this report 04 October 2000 (04.10.2000)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/04411

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-35, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-29, filed with the letter of 29 August 2000 (29.08.2000),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/10-10/10, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____,
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☒ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

See supplemental sheet.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP99/04411

IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☒ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See supplemental sheet.

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☐ all parts.
- ☒ the parts relating to claims Nos. 1-22

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of *(Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.)*:

...

3. ...

1. Each of the new independent claims, Claims 1, 9, 15, 16 and 19, now includes the feature of a hollow seal; however, the application as originally filed discloses only the use/presence of insulating tubes ("round tubes or rectangular material, for example silicone") or of an "extensible plastics tube" (page 29, line 2). However, the term "hollow seal" covers numerous other possibilities which are not supported by the indicated passage in the disclosure. For example, a hollow seal could also be rigid and inflexible and yet have the same function as conventional, strip-shaped insulating elements.

2. The present examination report therefore relates to claims in which the feature "hollow seal" is interpreted to mean "extensible plastics tube".

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.3

1. The present application **in its original form** contains more than only one invention, for the following reasons:
 - 1.1 **D1 (DE-A-37 35 872)** represents the prior art closest to Claim 1. That prior art differs from the two-dimensional separating method as per D1 only in that the buffer solution is drawn off after the first separation (cf. column 3, line 66, to column 4, line 57) whereas in D1 the buffer solutions (electrode solutions) are prepared by separate vessels (connected to pipe element (17) or located in recess (13)).

The technical effect of the method as per Claim 1 with respect to that of D1 appears to be a different way of performing the buffer exchange.
 - 1.2 **D2 (WO-A-92/00795)** represents the prior art closest to Claim 9 and describes an electrophoresis device suitable for two-dimensional separation (dependent on the formation of the gel, as shown in US-A-4 874 490, for example), the electrophoresis chamber having a core with cooling elements (see Figure 3) and gel chambers being disposed "to the left" and "to the right" thereof (see Figure 4). The difference between the D2 device and that of Claim 1 is that, according to the latter, the gel chambers are formed by plates.

This difference is also found in independent Claim 15.

Supplemental Box
(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.3

The associated technical effect appears to be improved temperature transmission (i.e. cooling).

- 1.3 The electrophoresis chamber as per Claim 16 evidently differs from the prior art as per D1 by the horizontal arrangement of the gels and the two deflection elements disposed so as to guide insulating elements.

The technical effect of these differentiating features appears to be a different type of gel arrangement and additionally simpler handling of the separating gel insulation.

The method of independent Claim 19 differs from the closest prior art as per D1 in that the IEF gel is disposed horizontally and an SDS, which is disposed horizontally to the IEF gel, is used as the second gel (D1 does not specify the second gel).

The technical effect of these differentiating features appears to be separation by means of a gel arrangement other than that as per D1.

- 1.4 Apart from the fact that it is not clear what is meant by the expression "instead of the gel for separating in the first dimension" ("something which is not present cannot be replaced"), the method as per Claim 23 appears to describe a conventional one-dimensional electrophoretic separation method. -

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.3

- 1.5 **D3 (EP-A-0 287 513)** represents the prior art closest to independent Claims 24 and 25. The difference between the IEF gel as per 24 and that of D3 is that, according to the former, the gel is layered.

The associated technical effect is evidently an improved separating effect. The same considerations apply to the dry gel as per Claim 29.

2. It is clear from the above comments that the technical contribution made by these groups of independent Claims 1, 9+15, 16+19 and 24+29 (Claim 23 is not novel) to the respective prior art differs. Thus these (groups of) independent claims are not linked by a common inventive concept - as required by PCT Rule 13.2 - but represent (at least) four different inventions.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 99/04411

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1 - 22	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 22	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 22	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

1. Preliminary observation:

After being invited to pay three additional examination fees, the applicant paid only two further examination fees, under protest, and so the written opinion examined the first three groups of independent claims, Claims 1, 9+15 and 16+19 (including the respective dependent claims).

The new Claims 1 to 29 of 29 August 2000 were filed in reaction to the written opinion. However, the following preliminary examination report concerning novelty, inventive step and industrial applicability concerns Claims 1 to 22 (with the restrictions indicated in Box I, point 3).

Novelty:

D1 (DE-A-37 35 872) is considered the closest prior art and describes a method for the two-dimensional electrophoretic separation of biomolecules, from which the method as per Claim 1 differs in a manner essential to the invention by the use of an extensible plastics tube as the insulating element for separating the gels for the first and second

dimensions (PCT Article 33(2)).

A similar differentiating feature is also found in the further independent claims, Claims 9, 15, 16 and 19, and in the associated dependent claims.

Inventive step:

The problem when separating the gels for the first and second dimensions using rigid insulating elements (e.g. insulator strips) is that, when the latter are removed (e.g. withdrawn), the gel is damaged at the side edges. If, on the other hand, the gels are insulated from each other by air cushions, there is a risk of the gels' oxidizing or drying out. Consequently the technical problem can be considered that of devising a method (producing a device) for two-dimensional electrophoresis, wherein the separating gels are neither damaged nor dry out when the insulation has been removed.

The approach proposed for achieving this object in the present application is to use an extensible plastics tube as insulating element. When the tube is withdrawn, its outer dimension can decrease owing to the extension, which in turn prevents the gel from being damaged.

Since the available prior art neither describes nor suggests this type of insulating element, an inventive step can be recognized in Claims 1 to 22 (PCT Article 33(3)).

Industrial applicability

Industrial applicability can likewise be recognized (PCT Article 33(4)).

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Owing to the use of two independent method claims, Claims 1 and 19, and three independent device claims, Claims 9, 15 and 16, it appears difficult, if not impossible, to determine the subject matter for which protection is sought, making it unreasonably difficult for third parties to establish the scope of protection. Therefore the claims as a whole lack clarity.
2. Device Claim 15 does not indicate by which technical features the automatic 2D-separation mentioned can be achieved. Therefore the claim is lacking essential technical features.

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts P53898PC-HH	WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 99/ 04411	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 25/06/1999	(Früheste) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 03/07/1998
Anmelder WITA GMBH ... et. al.		

Dieser Internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser Internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der Sprache ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerisierter Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerisierter Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 1

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.

A. KLASSTIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 G01N27/447 C07K1/26 B01D57/02

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 37 35 872 A (SCHUETT LABORTECHNIK GMBH) 3. August 1989 (1989-08-03) das ganze Dokument	1, 9, 15, 16, 19, 23, 24, 29
A	WO 92 00795 A (SERVA FEINBIOCHEM GMBH & CO) 23. Januar 1992 (1992-01-23) Abbildung 1	1
A	US 4 385 974 A (SHEVITZ JERRY) 31. Mai 1983 (1983-05-31) Zusammenfassung Spalte 9, Zeile 24	1, 24, 25
A	US 3 803 020 A (STEPHAN W) 9. April 1974 (1974-04-09) Zusammenfassung; Abbildung 1 -/-	1



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindertätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindertätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

25. November 1999

Absenddatum des Internationalen Recherchenberichts

02/12/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Duchatellier, M

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	EP 0 171 680 A (FLOSSER HANS) 19. Februar 1986 (1986-02-19) Zusammenfassung; Abbildung 1	9
A	EP 0 287 513 A (CIBA GEIGY AG) 19. Oktober 1988 (1988-10-19) Spalte 14, Zeile 12 - Zeile 18	24,25,29
A	WO 98 25136 A (TEASDALE ROBERT DIXON ;FORBIO RES PTY LTD (AU)) 11. Juni 1998 (1998-06-11) Seite 1, Zeile 19 - Zeile 25 Seite 4, Zeile 17 - Zeile 25	23
A	US 4 874 490 A (HOCHSTRASSER DENIS F) 17. Oktober 1989 (1989-10-17) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung; Abbildung 2	1
A	US 4 666 581 A (ITOH MICHIO ET AL) 19. Mai 1987 (1987-05-19) in der Anmeldung erwähnt Spalte 3, Zeile 30 - Zeile 31	24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/04411

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 3735872	A	03-08-1989	NONE	
WO 9200795	A	23-01-1992	DE 4021728 A EP 0539399 A	09-01-1992 05-05-1993
US 4385974	A	31-05-1983	NONE	
US 3803020	A	09-04-1974	AT 330723 B AT 601972 A BE 787105 A CH 576140 A DE 2140417 A DK 128858 B FR 2148642 A GB 1368403 A IT 962641 B JP 48031992 A JP 52043598 B NL 7208660 A, B SE 386980 B	12-07-1976 15-10-1975 01-12-1972 31-05-1976 27-07-1972 15-07-1974 23-03-1973 25-09-1974 31-12-1973 26-04-1973 31-10-1977 14-02-1973 23-08-1976
EP 0171680	A	19-02-1986	DE 3430064 A JP 61057848 A	27-02-1986 24-03-1986
EP 0287513	A	19-10-1988	AT 83077 T CA 1335805 A DE 3876273 A DK 191388 A FI 881652 A, B, GR 3007124 T HK 192495 A IE 62803 B JP 2049305 C JP 7081987 B JP 63263457 A PT 87210 A, B US 4971670 A US 5082548 A	15-12-1992 06-06-1995 14-01-1993 12-10-1988 12-10-1988 30-07-1993 29-12-1995 08-03-1995 25-04-1996 06-09-1995 31-10-1988 12-05-1989 20-11-1990 21-01-1992
WO 9825136	A	11-06-1998	AU 5185198 A	29-06-1998
US 4874490	A	17-10-1989	DE 68918550 D DE 68918550 T EP 0366897 A JP 2151758 A JP 2701943 B	03-11-1994 02-02-1995 09-05-1990 11-06-1990 21-01-1998
US 4666581	A	19-05-1987	JP 60236057 A JP 1842625 C JP 5048421 B JP 61104248 A	22-11-1985 12-05-1994 21-07-1993 22-05-1986

Patent Claims

1. Method for the two-dimension separation of biomolecules or other substance mixtures in gels, polymer carriers by means of electrophoresis, where

-the gels for the separation in the first dimension and the gels for the separation in the second dimension, arranged in succession or simultaneously vertical to one another, are brought into an electrophoresis combination chamber as casting gels or as ready-to-use gels and from each other are isolated by a hollow seal, polymerised and re-hydrated respectively,

-buffer solutions are then filled in, a biomolecule mixture is deposited onto the gels of the first dimension and the electrophoretic separation of the first dimension is carried out at constant temperature or at a fixed temperature gradient,

-the buffer solution is then suctioned off, the isolation neutralised, contact gel is filled into the resulting spaces between the first and second dimension and polymerised out, buffer solutions are filled in and the electrophoretic separation of the second dimension is carried out at a precisely set temperature and constant electric capacity or increasing current intensity, and

-finally, the gels are developed and the proteins are made visible by standard methods.

2. Method according to Claim 1,

characterised, in that

for the separation process, the gels in the electrophoresis combination chamber are standing vertically and the separation of the proteins is performed in the first dimension vertically and in the second dimension horizontally.

3. Method according to Claim 1,

characterised, in that

the gels of the first dimension are cast as flat gels in a U-shaped tube, in which case a stop gel is first cast and, following this, the separation gel is cast and the casting processes as well as the polymerisation processes take place at constant temperature with activated cooling.

4. Method according to Claim 1

characterised, in that

the gels of the second dimension are cast in two steps in such a way that, in a first step a sealing gel, and after its polymerisation, in a second step the gel solution is cast from below and rising in an upward direction in such a way that the air is displaced upwardly and the gel is finally polymerised at constant temperature with activated cooling.

5. Method according to Claim 1

characterised, in that

the gels are produced with variable width and thickness.

6. Method according to Claim 1,

characterised, in that

the neutralisation of the isolations is realised by physical removal of seals or switching by means of volume or diameter reductions of seal hoses.

7. Method according to Claim 1,

characterised, in that

the process of the two-dimensional electrophoresis is performed automatically.

8. Method according to Claim 3,

characterised, in that

the gels and the buffer solutions are tempered from the same cooling.

9. Device for the two-dimensional separation of biomolecules or other substance mixtures in gels by means of electrophoresis in an electrophoresis apparatus indicating electrodes,

characterised, in that

an electrophoresis combination chamber (1) has a core (2) with cooling elements (3), where the cooling elements (3) are arranged between gel chambers (6, 7) and buffer vessels (8) formed on both sides of the core (2) by means of inner plates (4) and outer plates (5) in combination with removable or switchable isolating elements in the form of a hollow seal (9).

10. Device according to Claim 9,

characterised, in that

the cooling elements (3) are formed by means of a meander-shaped cooling labyrinth (10) with supply (11) and return (12) and the cooling labyrinth (19) encloses the buffer vessels (8) and (21), where the inner plates (4) are made of a good temperature-conducting material and the outer plates (5) are made of a transparent material.

11. Device according to Claim 9,

characterised, in that

the inner plates (4) consist of ceramic or plastic material and the outer plates (5) of glass or transparent material, and the outer plates (5) are held in position by a clamping frame (13), and a cover (14) covers off the electrophoresis combination chamber (1) in the upward direction.

12. Device according to Claim 11,

characterised, in that

the clamping frame (13) is secured on both sides by means of clamping elements (15) and has viewing windows (16) for process inspection.

13. Device according to Claim 9 or 11,

characterised, in that

the lower limitation of the electrophoresis combination chamber (1) is realised by means of an adjustable and rotary table, on which the electrophoresis combination chamber (1) is fixed-positioned and the cover (14) indicates inlet and outlet lines for the cooling medium as well as to the buffer vessels (8, 21) and gel chambers (6, 7) and the connections for the electrodes of the first and second dimension.

14. Device according to Claim 9,

characterised, in that

the core (2) consists of polymer material such as acryl glass, ceramic or plexi-glass, and the gel chambers (6,7) are joined with filling tubes (17), and vent openings are arranged, and between inner plates (4) and outer plates (5) seals are arranged, and the isolating elements (9) with recesses act together, and the parts of the electrophoresis combination chamber (1) contacting the media gels and/or gel solutions and/or buffer solutions are surface-coated, where the surface coating can consist of amorphous carbon layers.

15. Device for the two-dimensional separation of biomolecules or other substance mixtures in gels, polymers or carrier-free media by means of electrophoresis in an electrophoresis apparatus,

characterised, in that

all assembly groups as required for the performance of a two-dimensional separation are fully integrated in an electrophoresis combination chamber (1), consisting of a core (2) with cooling elements (3), where the cooling elements (3) are arranged between the separating chambers (6,7) formed on both sides of the core by means of inner plates (4) and outer plates (5) in combination with removable or switchable isolating elements in the form of a hollow seal (9), buffer vessels (8, 21) and holders for the electrodes, and the performance of the two-dimension separation can be fully automated without the necessity of manipulation on the gels themselves during the course of the two-dimension separation.

16. Combination chamber for two-dimension separation of biomolecules or other substance mixtures in gels arranged horizontally and above each other by means of electrophoresis with a rear wall plate (28A) and a cover plate (28B), where at least two deflection elements (22) are arranged between rear wall plate (28A) and cover plate (28B) for guiding isolating elements in the form of a hollow seal (24).

17. Combination chamber according to Claim 16,

characterised, in that

the chamber arrangement consists of an upper IEF-part for the performance of the IEF-electrophoresis in the first dimension and a lower part for the performance of the SDS-electrophoresis in the second dimension, and the gels (25) and (36) are arranged horizontally above each other, and the plates (28A, 28B) are sealed off to the outside by means of seals (23), the configuration of the seals (23) and the thickness of the gels (25, 36) being fixed and, next to the deflection elements (22), electrodes (26, 27) are positioned for the electrophoresis of the first dimension, where the plate (28A) is made of ceramic or glass and the plate (28B) is a transparent plate.

18. Combination chamber according to Claim 16,

characterised, in that

the rear wall plate (28A) forms a unit together with the upper buffer reservoir (29) of the second dimension as well as the pouring vessel (30) and the buffer filling vessel (31), and the assembled construction consisting of the plates (28A, 28B) and the upper buffer reservoir (29), the pouring vessel (30) and the buffer filling vessel (31) is placed and arranged in the lower buffer tank (32), and a seal (33) is arranged, which is liftable in function, and in the upper buffer reservoir (29) and in the lower buffer tank (32) electrodes (38, 39) are arranged for the electrophoresis of the second dimension.

19. Method for the two-dimension separation of biomolecules or other substance mixtures in gels or polymer carriers by means of electrophoresis in an electrophoresis combination chamber, where

- an IEF-gel is arranged horizontally in the combination chamber and is coated over with re-hydration buffer for re-hydration purposes,
- following this, a biomolecule or substance mixture specimen is brought into the IEF-gel or applied to the IEF-gel and the electrophoresis of the first dimension is performed,
- before, after or during the performance of the first dimension, an SDS-gel for the performance of the second dimension is brought in horizontally to the IEF-gel and, isolated from this by a hollow seal, into the combination chamber and the SDS-gel is polymerised,
- after completion of the IEF-electrophoresis the isolation is neutralised, contact gel put in to the resulting spaces, buffer solution added and the SDS-electrophoresis in the second dimension is carried out, and finally the gels are developed and coloured according to the known methods.

20. Method according to Claim 19,

characterised, in that

after the re-hydration of the IEF-gel, excess buffer solution is removed and the recess in the IEF-gel is produced by the introduction of a spacer during the re-hydration, and the IEF-gel is re-buffered after the electrophoresis by adding re-equilibration buffer, and the isolation is neutralised by the removal of a plastic hose by drawing out with the help of a stepping motor.

21. Method according to Claim 19,

characterised, in that

the cooling of both electrophoresis-dimensions is performed by immersing the gel sandwiches in thermostatically controlled buffer solution of the second dimension, or the cooling of both electrophoresis-dimensions is realised by cooling chambers arranged in the combination chamber.

22. Method according to Claim 19,

characterised, in that

the biomolecule or substance mixture specimen is brought into a recess in the IEF-gel.

23. Method for the one-dimension separation of biomolecules or other substance mixtures by means of electrophoresis,

characterised, in that

- instead of the gel for the separation in the first dimension as well as the isolating element, a comb with specimen pockets for various specimens is placed in the SDS-gel and this is polymerised out,
- the comb is removed after out-polymerisation,
- the specimens are brought into the resulting recesses and
- following this, the one-dimension electrophoresis is performed.

24. Hydrated IEF-gel manufactured by pouring an immobiline gel with low pK on a gel-polymerised foil and its polymerisation, pouring of an acryl amide gel on the immobiline gel and incipient polymerisation, pouring of an immobiline gel with high pK on the acryl amide gel and its on-polymerisation and subsequent re-hydration by means of a re-hydration buffer, which contains 1-4% of such ampholines, allowing a pH-range within 2-11.

25. IEF-gel according to Claim 24,

characterised, in that

the immobiline gels are manufactured from 6-10%, preferentially 10%, acrylamide with additive of 50-200 mM, preferentially 50-100 mM immobiline.

26. IEF-gel according to Claim 24,

characterised, in that

the acrylamide gel is manufactured from 3,5-4,5% preferentially 3,5-5% acrylamide.

27. IEF-gel according to Claim 24

characterised, in that

the re-hydration buffer contains of 5-9,5 M, preferentially 9 M, urea and, as required, detergents, preferentially Tween 20, Chaps or Triton X-100.

28. IEF-gel according to Claim 24,

characterised, in that

before re-hydration, washing steps are carried out as required, and is dried.

29. Dry gel manufactured by pouring an immobiline gel with low pK on a gel polymerisation foil and its polymerisation, pouring of an acrylamide gel on the immobiline gel and its incipient polymerisation, pouring of an immobiline gel with high pK on the acrylamide gel and its incipient polymerisation.